

研究課題名：化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための新たなバイオマーカーの開発

主任研究者：名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学
那須 民江

1. 研究目的

- (1) 化学物質のヒトの生殖機能及び次世代に与える影響について、影響を観察しやすい職業的暴露や中毒集団における解析を実施し、職場や生活環境における化学物質のリスク評価に資すること
- (2) 従来 of 生殖・次世代影響の指標に加え、職域や一般集団でも検査可能な新たなバイオマーカーを確立すること

2. 研究計画の進捗状況及び得られている結果

(1) 職業的暴露・中毒集団における化学物質の影響

a. ハロゲン化炭化水素殺虫剤

暴露作業を含む職域の男性職員 34 名について、暴露調査及び精液検査を含む健康調査を実施した。

血中及び尿中臭化物イオン濃度は、対照者(12 名)に比べ暴露作業員(22 名)で有意に高値を示した。しかし、暴露者と対照者との間で血中性ホルモン濃度、前立腺体積及び前立腺特異抗原(PSA)値、精巣容積に有意差はなく、また、暴露作業員 6 名の精液指標に明らかな異常は認められず、調査への参加率の低さや健康作業員効果を考慮する必要はあるが、集団として生殖機能への影響は検出されなかった。ただし、血中性ホルモン濃度に関して年齢を共変量とした共分散分析では、テストステロン濃度が暴露者で高い傾向($p=0.09$)にあり、今後対象者数をふやして検討することが必要と考えられた。

b. 有機リン系殺虫剤

主に有機リン系、ピレスロイド系殺虫剤を撒布する職域集団(34 名)の健康調査では、血中性ホルモン濃度、前立腺体積及び PSA 値、精巣容積、不妊の訴えなど明らかに生殖機能障害と考えられる所見は集団としてみられなかった¹⁾。

ジクロロボス(DDVP)の生殖影響評価のための、Wistar 系ラット及び MLTC-1 マウスライディット腫瘍細胞を用いた予備的検討をおこなった。ラットに DDVP を 1~4 mg/kg、9 週間皮下投与すると、高速直進運動精子率の減少傾向、非運動精子率の上昇傾向を認めた。非運動精子率の上昇については、精子運動解析装置を用いてはじめて有意差を検出したことから、運動性カテゴリーのカットオフ値の調節が可能な解析装置の使用により、精液質変化をより鋭敏に検出できる可能性がある。

また、DDVP は、ライディッヒ細胞のテストステロン合成系には直接作用しないことが明らかになった。

c. 有機溶剤

グラビア印刷工場で有機溶剤取り扱い作業を行う男性既婚従業員 43 人の子供の性比と、43 人のうち印刷機周囲で作業する従業員 14 人のトルエンの個人暴露量、尿中馬尿酸量を調査した。

その結果は、現在、解析中であるが、ここでの結果はいずれも横断的研究から得られるものであり、今後、縦断的研究を併せて行う必要がある。

d. 有機スズ化合物

中国において、ラードに混入したトリメチル塩化スズにより集団食中毒をおこした患者 225 名のデータベースを作成し、一日あたり摂取したラードと記憶障害、躁状態、幻覚症状との間に有意な関連性を認めた。

また、予備的検討として行った MLTC-1 マウスライディッヒ腫瘍細胞での実験で、フタル酸エステル類に比べ低用量域でテストステロン合成を阻害していることを明らかにした。

(2) 新たなバイオマーカーの確立

a. 影響のバイオマーカー

a-1. 精子クレアチンキナーゼ免疫染色

今回実施した精液検査において、精子原液の塗抹標本に精子クレアチンキナーゼ免疫染色を行うと、形態異常精子、未熟な精子が染色されたことから、これらの異常精子を鋭敏かつ正確に検出するバイオマーカーとして利用できる可能性が明らかになった。

a-2. 血中性ホルモン濃度

男性において黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、前立腺体積は年齢とともに上昇するとされているが、ハロゲン化炭化水素殺虫剤および有機リン系殺虫剤に暴露する職域での今回の調査において、年齢で LH、FSH を有意に回帰し、職域集団でバイオマーカーとして用いる場合は年齢で調整する必要性が認められた。有機リン系殺虫剤では、先に同じ職域で精液検査を含む調査を行った時に比べ LH、FSH の高値の作業者が多く、前回の調査に比べ高い平均年齢を反映していると考えられた。

a-3. 8-ヒドロオキシデオキシグアノシン (8-OHdG)

主に有機リン系、ピレスロイド系殺虫剤を撒布する職域集団 (34 名) を対象として白血球と精液の 8-OHdG を測定した。

白血球の8-OHdGは夏季の調査において暴露者の方が対照集団より高かったが、精液中の8-OHdG濃度には暴露と季節による変動は見られなかった。

a-4. その他のバイオマーカー

現在までの解析においては、精巣体積や前立腺に関する指標その他検討を行った項目についてバイオマーカーとしての有効性は明らかにならなかった。生殖器系への影響があらかじめ明らかな集団で調査を行ったわけではないという研究デザインの限界もあり、今後の検討の課題としたい。

b. 暴露のバイオマーカー

b-1. 有機リン系殺虫剤暴露のバイオマーカー

ガスクロマトグラフ質量分析計による尿中の4種類のジアルキルリン酸の同時測定系を確立した。検出限界は、ジメチルチオリン酸 0.1µg/l、ジエチルチオリン酸 0.1µg/l、ジメチルリン酸 0.3µg/l、ジエチルリン酸 0.04µg/l であり、非暴露一般集団におけるバックグラウンドレベルの測定が可能になった。

c. 感受性のバイオマーカー

有機リン化合物の代謝酵素であるパラオキシナーゼ1 (PON1)の遺伝子多型解析の技術的検討をおこない、方法論を確立させた。

3. 今後の予定

(1) 職業的暴露・中毒集団における化学物質の影響の解明

- a. ハロゲン化炭化水素殺虫剤暴露に関しては職域集団で暴露量と各影響指標との量反応関係の検討を継続する。
- b. 有機リン系殺虫剤暴露作業者の尿中殺虫剤代謝物量については、撒布頻度との対応、既に得ている精液指標、性ホルモン値、8-OHdG値など各指標との関係を解析する。
- c. 有機溶剤については検討を継続する。
- d. 有機スズ化合物については、これまでの予備調査やステロイド代謝への影響を参考とした疫学調査を予定している。

(2) 新たなバイオマーカーの確立

- a. 精子クレアチニンキナーゼ免疫染色の、影響のバイオマーカーとしての確立をめざす。性ホルモンについてはさらに検討を進める。
- b. 有機リン系殺虫剤の尿中殺虫剤代謝物量については、暴露作業員、非暴露対照者ともにさらに対象者を増やして測定を行う。

また、ピレスロイド系殺虫剤の代謝物についても測定系の確立を目指す。

c. PON1 の遺伝子多型解析を行い、感受性の個体差のバイオマーカーとしての利用可能性を検討する（倫理委員会申請中）。

4. 引用文献

- 1) Kamijima M, Hibi H, Gotoh M, Taki K, Saito I, Wang H, Itohara S, Yamada T, Ichihara G, Shibata E, Nakajima T, Takeuchi Y. A Survey of Semen Indices in Insecticide Sprayers. J Occup Health 46, 109-118, 2004

